



دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی بالینی

عنوان:

ارزیابی اثرات اعتیاد به تریاک بر سطح متیلاسیون پروموتور OPRM1 در

لکوسیت‌های افراد معتاد به تریاک در مقایسه با افراد سالم

توسط: قاسم ابراهیمی

استاد راهنما: دکتر غلامرضا اسدی کرم

استاد مشاور: دکتر محمد هاشمی

سال تحصیلی ۱۳۹۴-۱۳۹۵





Kerman University of Medical Science

Faculty of Medicine

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

(MSC)

Title:

**Effects of Opium Addiction on Methylation at the OPRM1 Gene Promoter in
leukocytes of Opium Addicts Compared with Healthy Subjects**

BY:

Ghasem Ebrahimi

Supervisor:

1- Dr. Gholamreza Asadikaram

Advisor:

1- Dr. Mohammad Hashemi

Year:

2016



چکیده فارسی:

مقدمه و اهداف: اعتیاد یک بیماری مزمن عود کننده مغزی است که نتیجه اثر مستقیم ماده مخدر و سازگاری عصبی مزمن شده می باشد. متیلاسیون کربن شماره ۵ سیتوزین (5-mC) در دی نوکلئوتید سیتوزین:گوانوزین (CpG) یکی از مکانیسم های اپی ژنتیک است که بیان ژن را تغییر می دهد. گیرنده اپیوئیدی μ نقش محوری در ایجاد اعتیاد به اپیوئیدها دارد و توسط ژن OPRM1 کد می شود و کاهش نابجای آن در سطح سلول مسئول ایجاد تحمل و وابستگی قیزیکی می باشد. هدف مطالعه حاضر بررسی ارتباط بین مصرف تریاک و مکانیسم های اپی ژنتیک دخیل در اعتیاد به تریاک می باشد. به این منظور تاثیر اعتیاد به تریاک بر متیلاسیون دو ناحیه انتخابی از پروموتور OPRM1 در لوکوسیت های افراد معتاد به تریاک بررسی شد و با گروه شاهد مقایسه گردید.

روش ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، DNA ژنومی از خون محیطی ۶۶ مرد معتاد به تریاک و ۵۷ مرد سالم استخراج گردید. DNA ژنومی استخراج شده بعد از تیمار با بی سولفیت سدیم با استفاده از nested methylation-specific PCR بررسی شد. برای مقایسه وضعیت متیلاسیون بین دو گروه از آزمون آماری مربع کای استفاده شد.

یافته ها: دامنه سنی شرکت کنندگان بین ۵۶-۱۹ سال بود و اختلاف معنی داری بین میانگین سنی گروه مورد و شاهد وجود نداشت ($P=0.082$). نتایج نشان داد که اختلاف معنی داری در متیلاسیون ناحیه R1 بین گروه مورد (۲۱/۲٪) و گروه کنترل (۲۱/۱٪) وجود ندارد ($P=0.983$)، در حالیکه در ناحیه R2، در ۵۷/۶٪ از گروه مورد و ۲۶/۳٪ از گروه کنترل متیلاسیون وجود دارد و تفاوت معنی داری بین گروه معتاد و شاهد دیده شد ($P<0.0001$).

نتیجه گیری: مطالعه ما افزایش متیلاسیون ناحیه R2 پروموتور OPRM1 را در لوکوسیت های افراد معتاد به تریاک نشان داد. شناسایی متیلاسیون DNA و فاکتورهای تنظیم کننده آن در اعتیاد به تریاک می تواند منجر به درمان های دارویی جدید برای درمان معتادان اپیوئیدی گردد. تغییر در اندپوینت های اپی ژنتیکی در بافت های محیطی مانند خون در اثر سوء مصرف ماده مخدر می تواند از نظر بالینی به عنوان بیومارکر مفیدی برای تشخیص اعتیاد در نظر گرفته شود.

کلید واژه: اعتیاد؛ تریاک؛ OPRM1؛ متیلاسیون DNA؛ اپی ژنتیک

Abstract

Background: Addiction is a chronic relapsing disease of the brain that results from the direct effect of drugs and persisting neuroadaptation. During the development and behavioral adaptation, epigenetic mechanisms play a key role in the effects of environmental stimuli on cell fate. One of the epigenetics mechanisms which alter gene expression was considered methylation of cytosine 5' carbon (5'-mC), mainly in cytosine: guanine (CpG) dinucleotides. The mu opioid receptor plays a pivotal role in the development of opioid addiction which encoded by OPRM1 gene and its aberrant reducing on cell membrane is responsible for tolerance and physical dependence. Therefore, we investigated the effects of opium addiction on methylation of two R1 and R2 regions of the OPRM1 promoter in leukocytes from addicts and non-addicts.

Materials and Methods: Genomic DNA was extracted from the peripheral blood of 66 opium-addicted men and 57 healthy non-opium-addicted men. Extracted genomic DNAs treated with sodium bisulfite to convert the un-methylated cytosine to uracil, while methylated cytosine remains unaffected. Nested methylation-specific PCR was used for analyzing the OPRM1 promoter methylation. To compare the methylation status between two groups, the Chi-square test was used.

Results: Subjects were 19-56 years old and there was no significant difference in the mean age of the case and control group ($P=0.082$). The results indicated that there was no significant difference of the R1 region methylation between case (21.2%) and control group (21.1%) ($P=0.983$). However, regarding the methylation of the R2 region in case (57.6%) and control group (26.3%), there was significant difference between two groups ($P<0.0001$).

Conclusion: Our study demonstrated hypermethylation of the R2 region of the OPRM1 promoter in leukocytes of opium-addicts. Identification of DNA methylation and their regulatory factors in addiction to opium can lead to new drug therapies in order to treatment of opioid addicts. Changes of epigenetic endpoints in peripheral tissues such as blood under drug abuse can be considered clinically useful biomarker for diagnosis of addiction.

Key Words: Addiction; Opium; OPRM1; DNA methylation; Epigenetic.